

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

04 FEB 2004

EP 03 / 1 4 9 5



REC'D 17 FEB 2004

WIPO

PCT

Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen:

103 00 091.7

Anmeldetag:

4. Januar 2003

Anmelder/Inhaber:

Dr. Holger Lubatschowski, 30989 Gehrden/DE

Erstanmelder: Dr. Omid Kermani, 50858 Köln/DE**Bezeichnung:**

Mikrotom

IPC:

G 01 N 33/48

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 13. Januar 2004
Deutsches Patent- und Markenamt
 Der Präsident
 im Auftrag

**PRIORITY
DOCUMENT**
 SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
 COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Bremen
Patentanwälte
European Patent Attorneys
Dipl.-Ing. Günther Eisenführ
Dipl.-Ing. Dieter K. Speiser
Dr.-Ing. Werner W. Rabus
Dipl.-Ing. Jürgen Brügge
Dipl.-Ing. Jürgen Klinghardt
Dipl.-Ing. Klaus G. Göken
Jochen Ehlers
Dipl.-Ing. Mark Andres
Dipl.-Chem. Dr. Uwe Stilkenböhmer
Dipl.-Ing. Stephan Keck
Dipl.-Ing. Johannes M. B. Wasiljeff

Rechtsanwälte
Ulrich H. Sander
Christian Spintig
Sabine Richter
Herald A. Förster

Martinistrasse 24
D-28195 Bremen
Tel. +49-(0)421-36 35 0
Fax +49-(0)421-337 8788 (G3)
Fax +49-(0)421-328 8631 (G4)
mail@eisenfuhr.com
http://www.eisenfuhr.com

Hamburg
Patentanwalt
European Patent Attorney
Dipl.-Phys. Frank Meier

Rechtsanwälte
Rainer Böhm
Nicol A. Schrömgens, LL. M.

München
Patentanwälte
European Patent Attorneys
Dipl.-Phys. Heinz Nöth
Dipl.-Wirt.-Ing. Rainer Fritzsche
Lbm.-Chem. Gabriele Leißler-Gerstl
Dipl.-Ing. Olaf Ungerer
Patentanwalt
Dipl.-Chem. Dr. Peter Schuler

Berlin
Patentanwälte
European Patent Attorneys
Dipl.-Ing. Henning Christiansen
Dipl.-Ing. Joachim von Oppen
Dipl.-Ing. Jutta Kaden

Alicante
European Trademark Attorney
Dipl.-Ing. Jürgen Klinghardt

Bremen, 3. Januar 2003
Unser Zeichen: KA 1674-01DE UST/LBI/ame
Durchwahl: 0421/36 35 13

Anmelder/Inhaber: KERMANI, Dr. Omid
Amtsaktenzeichen: Neuanmeldung

Dr. Omid Kermani
Donauweg 1, 50858 Köln

Mikrotom

Die Erfindung betrifft ein Mikrotom, umfassend eine Aufnahmevorrichtung mit einem Träger zum Aufnehmen von zumindest einem Abschnitt eines Bearbeitungsobjektes, und eine Trenneinrichtung. Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft ein Verfahren zum Mikrotomieren von Bearbeitungsobjekten.

Mikrotome der vorgenannten Art und entsprechende Verfahren zum Mikrotomieren dienen dazu, von einem zu untersuchenden Bearbeitungsobjekt dünne Scheibchen abzutrennen, um diese beispielsweise mittels eines mikroskopischen Verfahrens zu untersuchen. Mikrotome werden häufig verwendet, um von einer Gewebeprobe dünne Gewebeschnitte zu gewinnen, die mittels eines Durchlichtmikroskopes untersucht werden können.

Im Stand der Technik sind Mikrotome bekannt, die eine Einspannvorrichtung für das Bearbeitungsobjekt und ein relativ zu dieser Einspannvorrichtung bewegbares Messer beinhalten. Das Messer ist leicht verfahrbar auf einem Schlitten befestigt und die Schneidkante des Messers kann in einer Trennebene hin- und hergefahren werden. Das Bearbeitungsobjekt kann in der Einspannvorrichtung eingespannt werden und mitsamt dem Träger der Einspannvorrichtung senkrecht zu der Trennebene verschoben werden.

Ein Mikrotomiervorgang mit dem bekannten Mikrotom wird in der Weise ausgeführt, dass das Bearbeitungsobjekt durch die senkrecht zur Trennebene gerichtete Verschiebebewegung in eine solche Position relativ zur Trennebene gebracht wird, dass bei einer Verfahrbewegung des Schlittens mit dem Messer in der Trennebene eine dünne Scheibe von dem Bearbeitungsobjekt abgetrennt wird. Das Messer wird hiernach in seine Ausgangsstellung zurückbewegt und das Bearbeitungsobjekt durch eine in der Regel sehr kleine Zustellungsverschiebebewegung $< 10\mu\text{m}$ des Trägers relativ zu dem Messer in senkrechter Richtung zur Trennebene so positioniert, dass bei einem erneuten Verfahren des Messers wiederum ein dünnes Scheibchen vom Bearbeitungsobjekt abgetrennt wird.

Dieser Vorgang wird regelmäßig mehrfach wiederholt, bis eine dünne Scheibe von dem zu untersuchenden Bereich des Bearbeitungsobjektes gewonnen wurde.

Um zu vermeiden, dass sich das Bearbeitungsobjekt bei dem Schneidvorgang mit dem bekannten Mikrotom verformt, ist es regelmäßig erforderlich, das Bearbeitungsobjekt mittels zusätzlicher Maßnahmen zu verfestigen und/oder zu stützen. Als solche zusätzliche Maßnahme ist es bekannt, Bearbeitungsobjekte, deren Deformationsfähigkeit durch Abkühlung verringert werden kann, vor dem Mikrotomieren tief zu kühlen. Nachteilig an diesem Verfahren ist, dass die aus gefrorenen Bearbeitungsobjekten gewonnenen, sog. Gefrierschnitte regelmäßig viele Details des Bearbeitungsobjektes nicht zeigen und darüber hinaus

durch das Einfrieren Artefakte im Bearbeitungsobjekt erzeugt werden.

Als weiterer Nachteil des Einfrierens ist bekannt, dass eine Deformation des Bearbeitungsobjektes und des abgetrennten dünnen Scheibchens mittels des Einfrierens nicht vollständig vermieden werden kann.

5 Darüber hinaus erfordert das Einfrieren des Bearbeitungsobjektes zusätzlichen Aufwand, was das schnelle Herstellen von mikroskopierbaren Scheibchen verhindert und die Herstellung insgesamt verteuert.

Weiterhin ist als Maßnahme zur Stützung eines Bearbeitungsobjektes bekannt, dieses in ein Einbettungsmaterial einzubetten. Dabei ist es bei
10 Bearbeitungsobjekten in Form von Gewebeproben regelmäßig erforderlich, das Bearbeitungsobjekt vollständig mit dem Einbettungsmaterial zu durchtränken, um eine ausreichende Verfestigung der Probe zu erzielen.

Als Einbettungsmaterialien sind Paraffine und verschiedene Kunststoffe bekannt. Zum Erzielen einer Durchtränkung ist bekannt, dem Bearbeitungsobjekt darin enthaltenes Wasser oder Fixationsmittel in einem
15 mehrstufigen chemischen Prozess zu entziehen und durch ein Fluid zu ersetzen, welches sich mit dem Einbettungsmaterial gut mischen lässt. Hierauf folgend kann die Durchtränkung mit dem Einbettungsmaterial im flüssigen, gegebenenfalls durch Erwärmung verflüssigten, Zustand
20 erfolgen und nachfolgend das Einbettungsmaterial verfestigt werden, z.B. durch Abkühlen aus einem zuvor erwärmten Zustand oder durch eine chemische Vernetzungsreaktion.

Die Einbettung bzw. Durchtränkung mit einem Einbettungsmaterial ist zeitlich und hinsichtlich des verfahrenstechnischen Aufwands noch
25 aufwendiger als das Einfrieren des Bearbeitungsobjektes. Durch die Einbettung bzw. Durchtränkung wird oftmals eine Veränderung des Bearbeitungsobjektes erzeugt, so dass bei der späteren Untersuchung der gewonnenen Scheibchen Artefakte beobachtet werden. Diese Artefakte sind typischerweise eine Schrumpfung oder Ausdehnung der
30 Probe. Im Falle von Gewebeproben treten regelmäßig auch durch

Unterbindung oder Beeinflussung der Stoffwechselvorgänge in Geweben verursachte Veränderungen der Probe auf.

Der Erfindung lag daher die Aufgabe zugrunde, ein Mikrotom und ein Verfahren zum Mikrotomieren bereitzustellen, bei dem eine Verfestigung
5 bzw. Einbettung eines Bearbeitungsobjektes, insbesondere in der zuvor beschriebenen Weise, regelmäßig nicht erforderlich ist.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß durch ein Mikrotom der eingangs genannten Art gelöst, bei dem die Trenneinrichtung wenigstens eine Laser-Strahlungsquelle und Mittel zur Fokussierung der Laserstrahlung
10 umfasst, wobei der durch die Fokussierung erzeugte Strahlfokus relativ zu dem Träger bewegbar ist und auf einen Ort der Trennfläche des Bearbeitungsobjektes leitbar ist, um an diesem Ort eine Materialtrennung zu bewirken.

Das erfindungsgemäße Mikrotom bewirkt eine Materialtrennung durch
15 die Einwirkung des Strahlfokus eines Laserstrahles. Diese Einwirkung bewirkt eine lokale Erwärmung des Materials des Bearbeitungsobjektes und in Folge dieser Erwärmung einen lokalen Übergang des Materials in den gasförmigen Zustand. Bei einer Relativbewegung zwischen dem Strahlfokus und dem Träger (mit dem Bearbeitungsobjekt) wirkt der
20 Strahlfokus auf mehrere, zueinander benachbarte Orte der Trennfläche ein, so dass ein zusammenhängender Schnitt ausgeführt werden kann.

Das erfindungsgemäße Mikrotom vermeidet die bei bekannten, mit Messern oder Klingen arbeitenden Mikrotomen aufgrund der Schneidkraft auftretende Gefahr einer Verformung des Bearbeitungsobjektes
25 oder der von dem Bearbeitungsobjekt abgetrennten dünnen Scheibe. Es ist daher bei Verwendung des erfindungsgemäßen Mikrotoms nicht erforderlich, das Bearbeitungsobjekt vor der Mikrotomierung einzubetten, zu durchtränken oder in anderer Weise zu verfestigen und/oder zu stützen. Artefakte in Folge von Einwirkungen eines Einbettungs-
30 materials oder eines Einfriervorganges werden somit vermieden.

Das erfindungsgemäße Mikrotom erlaubt eine freie Schnitfführung.

Als überraschender Vorteil des erfindungsgemäßen Mikrotoms hat sich gezeigt, dass es mittels des Mikrotoms auch möglich ist, lebendes Gewebe zu trennen und dabei dünne Scheibchen in vitaler Form zu gewinnen.

Die Laser-Strahlungsquelle des erfindungsgemäßen Mikrotoms emittiert vorzugsweise eine Laserstrahlung mit einer Wellenlänge im sichtbaren (VIS) oder nahen infraroten (NIR) Spektralbereich, damit die Laserstrahlung nur eine geringe Abschwächung, zum Beispiel infolge Absorption/Streuung, innerhalb eines üblichen Bearbeitungsobjektes erfährt.

Vorzugsweise kann in allen drei Raumrichtungen eine Relativbewegung zwischen dem Strahlfokus und dem Träger ausgeführt werden. Hierzu kann beispielsweise eine mit dem Träger verbundene 3-D-Bewegungseinrichtung vorgesehen werden. Durch die dreidimensionale, relative Beweglichkeit des Strahlfokus zu dem Träger, und damit zu dem durch den Träger aufgenommenen Bearbeitungsobjekt, können mit dem erfindungsgemäßen Mikrotom Schnitfführungen in einer gegenüber den bekannten Mikrotomen wesentlich variableren Weise ausgeführt werden. So ist es beispielsweise möglich, eine dünne Scheibe aus der Oberfläche eines Bearbeitungsobjektes herauszulösen, indem ein parallel zur Oberfläche liegender erster Trennflächenbereich und ein zweiter, senkrecht zu dieser Oberfläche liegender Trennflächenbereich, der den ersten Trennflächenbereich umrandet, erzeugt werden. Es ist folglich nicht mehr, wie bei bekannten Mikrotomen, erforderlich, stets eine gesamte, sich bis zu den Rändern des Bearbeitungsobjekt erstreckende Trennflächenebene vom Untersuchungsobjekt abzutrennen, sondern es können auch Teilbereiche (beispielsweise Bereiche mit rechteckigen oder runden Konturen) einer solchen Trennflächenebene herausgetrennt werden. Auf diese Weise ist eine sehr schonende Präparation eines Bearbeitungsobjektes möglich, bei der nur die für die

Untersuchung wesentlichen Teile aus dem Bearbeitungsobjekt herausgetrennt werden.

Die Eindringtiefe des Strahlfokus der Laserstrahlung ist abhängig von dem Absorptionsvermögen des Materials/der Materialien des Bearbeitungsobjektes für die zum Schneiden verwendete Laserstrahlung. Die Laser-Strahlungsquelle eines erfindungsgemäßen Mikrotoms wird vorzugsweise so ausgelegt, dass ein Materialtrennung noch in einer Eindringtiefe von $\geq 10\mu\text{m}$ erreicht werden kann, bezogen auf biologisches Gewebe als Bearbeitungsobjekt. Eine solche Eindringtiefe entspricht der Dicke eines für eine mikroskopische Untersuchung benötigten Scheibchens oder überschreitet diese Dicke sogar. In vielen biologischen Geweben kann mit dem erfindungsgemäßen Mikrotom in einer Tiefe von 2mm und darüber geschnitten werden.

In Abhängigkeit von den Eigenschaften des Bearbeitungsobjektes, insbesondere von dessen Absorptionsvermögen, ist es mit der erfindungsgemäßen Vorrichtung auch möglich, eine Materialtrennung in einem Abstand von der Oberfläche des Bearbeitungsobjektes zu erzielen, welcher die übliche Dicke eines für eine Untersuchung zu erzeugenden dünnen Scheibchens überschreitet. Auf diese Weise können mit dem erfindungsgemäßen Mikrotom in wesentlich rationellerer Weise Scheibchen aus einer großen Tiefe eines Untersuchungsobjektes gewonnen werden, als es mit bekannten Mikrotomen möglich ist, da es nicht erforderlich ist, sich mittels Abtrennen vieler dünner Scheibchen bis zu der gewünschten Tiefe vorzuarbeiten.

Bei einer vorteilhaften Ausführungsform des erfindungsgemäßen Mikrotoms sind die Mittel zur Fokussierung der Laserstrahlung dazu eingerichtet, den Strahlfokus in zumindest einer Raumrichtung relativ zu dem Träger zu bewegen. So kann, beispielsweise indem die Fokussierungsmittel eingerichtet sind, die Divergenz/Konvergenz des

Laserstrahls und damit die Brennweite zu ändern, und/oder indem die Fokussierungsmittel selbst relativ zum Träger beweglich sind, eine einfache und präzise zu steuernde Relativbewegung des Strahlfokus zu dem Träger (und dem zugehörigen Bearbeitungsobjekt) entlang der Strahlrichtung erreicht werden. Vorzugsweise umfassen die Mittel zur Fokussierung der Laserstrahlung verschieb- oder verschwenkbare optische Medien, beispielsweise Spiegel und/oder Linsen, um eine Relativbewegung des Strahlfokus in einer, zwei oder drei Raumrichtungen zu bewirken. So kann zur Veränderung der Lage des Strahlfokus ein optisches Medium in den Laserstrahl eingebracht werden oder ein im Laserstrahl angeordnetes optisches Medium verkippt werden, welches die optische Weglänge verkürzt oder verlängert.

Bei einer weiteren vorteilhaften Ausführungsform sind Mittel zur Führung der Laserstrahlung vorgesehen, um den Strahlfokus in zumindest einer Raumrichtung relativ zu dem Träger zu bewegen. Diese Mittel könne beispielsweise als Spiegel ausgeführt sein, die um eine oder zwei Achsen verschwenkbar sind.

Bei einer weiteren vorteilhaften Ausführungsform weisen die Mittel zur Fokussierung der Laserstrahlung eine numerische Apertur $\geq 0,65$, vorzugsweise eine numerische Apertur $\geq 1,2$ auf. Ein wesentlicher Vorteil bei Verwendung der angegebenen, großen numerischen Aperturen ist, dass ein starker Fokussierwinkel erreicht wird und in den in Strahlrichtung vor und hinter dem Strahlfokus gelegenen Bereichen der Laserstrahlung eine relativ zur Strahlungsenergie im Strahlfokus nur geringe Strahlungsenergie vorliegt, wodurch eine scharf abgegrenzte Materialtrennung im Bereich des Strahlfokus erreicht wird und eine Materialtrennung in den Bereichen davor und dahinter vermieden wird.

Das erfindungsgemäße Mikrotom umfasst vorzugsweise Mittel zum gepulsten Einbringen des Strahlfokus in den Ort der Trennfläche. Die Materialtrennung bei dem erfindungsgemäßen Mikrotom wird durch eine

lokale Aufheizung des Materials über den Prozess der Multiphotonenabsorption an dem Ort der Trennfläche, auf den der Strahlfokus geleitet ist, und eine daraus folgende Vergasung/Verdampfung des Materials erreicht. Neben diesem angestrebtem Primäreffekt, dem sogenannten optischen Durchbruch, können auch sekundäre Nebeneffekte auftreten. Insbesondere bei ungepulstem, kontinuierlichem Einbringen des Strahlfokus können im Einzelfall als Nebeneffekte größere Gas- und Kavitationsblasen entstehen, welche im Vergleich zu kleinen Gasbläschen geringes Oberflächen/Volumen-Verhältnis haben und dadurch ihren Gasinhalt eventuell nur langsam an die Umgebung abgeben. Dies wäre nachteilig für den angestrebten Schneideffekt. Weiterhin könnten die größeren Gas- und Kavitationsbläschen Verformungen verursachen und die präzise Positionierung des Strahlfokus und damit die präzise Schnittführung behindern. Darüber hinaus könnten innerhalb des Bearbeitungsobjektes Druckwellen auftreten, die die Präzision des Schneidvorgangs eventuell beeinträchtigen könnten.

Der photodisruptive Effekt, also die angestrebte Schneidwirkung des Laserstrahls, erfordert regelmäßig eine gewisse mindestens zu erreichende Intensität am Ort der Trennfläche. Typischerweise liegt diese Intensität für Bearbeitungsobjekte aus transparentem Material bei etwa 10^{12} W/cm² oder darüber. Die sekundären Nebeneffekte sind hingegen nicht von der Laserintensität abhängig sondern von der Laserenergie und ihr Ausmaß und ihre Anzahl nehmen mit steigenden Laserenergien zu. Um die sekundären Effekte daher zu verringern oder zu vermeiden ist es daher zweckmäßig, eine geringe Laserenergie und eine hohe Laserintensität zu erzielen. Dies kann beispielsweise durch gepulstes Einbringen des Strahlfokus in den Ort der Trennfläche erreicht werden.

Durch ein gepulstes Einbringen des Strahlfokus können diese negativen Effekte daher vermieden oder zumindest verringert werden. Dabei ist es insbesondere von Vorteil, wenn die Strahlfokuspulse hohe Intensitäten

aber wenig Energie besitzen, d.h. die Energie des Pulses auf ein kleines Volumen konzentriert wird, da hierdurch negative Nebeneffekte, wie die zuvor beschriebene Erzeugung von größeren Gas- und Kavitationsblasen, vermieden werden können. Durch einen einzelnen Puls kann – abhängig vom Bearbeitungsobjekt und den eingestellten Trennparametern - eine teilweise oder vollständige Trennung an dem im Bereich des Strahlfokus angeordneten Ort der Trennfläche erzeugt werden. Darauf folgend kann, im Falle einer nur teilweisen lokalen Trennung, durch die Einwirkung eines oder weiterer Pulse auf den gleichen Ort der Trennfläche eine vollständige Trennung erzielt werden; nach einer Relativbewegung des Träges zu dem Strahlfokus kann dann an einem benachbarten Ort wiederum eine Materialtrennung erzeugt werden, wodurch ein zusammenhängender Schnitt entlang der Trennfläche ausgeführt werden kann.

Dabei sind die Mittel zum gepulsten Einbringen vorzugsweise dazu eingerichtet, um Pulse mit einer Einwirkdauer < 1 Piko-Sekunde ($1 \cdot 10^{-12}$ Sekunde) zu erzeugen. Unter Einwirkdauer wird dabei die Zeit verstanden, für die der Strahlfokus an dem Ort der Trennfläche einwirkt. Eine Einwirkdauer von weniger als einer Piko-Sekunde, ein sogenannter Ultrakurzer Puls, hat sich dabei als besonders vorteilhaft für die meisten Materialien (insbesondere biologische Gewebe) erwiesen. Derzeit technisch realisierbare Einwirkdauern liegen dabei im Bereich bis hinunter zu zwanzig Femtosekunden ($20 \cdot 10^{-15}$ Sekunde), es sind jedoch auch, sofern technisch realisierbar, noch kürzere Einwirkdauern für das erfindungsgemäße Mikrotom sinnvoll verwendbar.

Die Mittel zum gepulsten Einbringen können bei einer weiteren vorteilhaften Ausführungsform mit der Laserstrahlungsquelle zusammenwirken. So kann durch Mittel zur pulsierenden Unterbrechung der Energieversorgung der Laserstrahlungsquelle eine gepulste Laserstrahlung erzeugt werden und dadurch ein gepulstes Einbringen des Strahlfokus in den Ort der Trennfläche erreicht werden.

Die Mittel zum gepulsten Einbringen können insbesondere nach dem Prinzip der „chirped pulse“-Verstärkung arbeiten. Zum Prinzip der „chirped pulse“-Verstärkung wird auf die DE 100 20 559 und dort insbesondere auf den Absatz [0009] sowie auf die dort genannte
 5 Veröffentlichung D. Strickland, G. Mourou, Opt. Commun. 56, 219 (1985) verwiesen.

Die Mittel zum gepulsten Einbringen können bei einer vorteilhaften Ausführungsform des erfindungsgemäßen Mikrotoms dazu eingerichtet sein, einen kontinuierlich erzeugten Laserstrahl pulsierend zu unterbrechen und/oder pulsierend von dem Ort der Trennfläche wegzulenken.
 10 Hierdurch wird, ohne dass man die Aussendung der Laserstrahlung aus der Laser-Strahlungsquelle unterbricht, ein gepulstes Einbringen des Strahlfokus in den Ort der Trennfläche erreicht. Der Strahl kann vorteilhafter Weise absorbiert werden. Der Strahl kann aber alternativ
 15 auch reflektiert und dadurch von dem Ort der Trennfläche weggelenkt werden zu einem Ort außerhalb des Bearbeitungsobjekts oder zu einer Stelle des Bearbeitungsobjekts, welche nicht für die beabsichtigte Untersuchung des Bearbeitungsobjekts relevant ist.

Bei einer weiteren vorteilhaften Ausführungsform eines Mikrotoms mit gepulster Einbringung des Strahlfokus sind Steuerungsmittel vorgesehen, welche die zeitliche Abfolge der Strahlungspausen steuern und/oder mit Mitteln zur Erfassung der zeitlichen Abfolge der Strahlungspausen verbunden sind und/oder welche die Relativbewegung zwischen dem Strahlfokus und dem Träger in
 25 Abhängigkeit von der zeitlichen Abfolge der Strahlungspausen steuern. Die Steuerungsmittel dienen zur Synchronisation der Laserstrahlpulse mit der Relativbewegung zwischen Strahlfokus und Träger. Als „zeitliche Abfolge“ der Strahlungspausen werden hierbei die Dauer und die Frequenz der Strahlungspausen verstanden. Bei Einsatz dieser
 30 Steuerungsmittel wird in Abhängigkeit von der Abfolge der Strahlungsunterbrechungen bzw. der Strahlungseinwirkungen eine Bewegung zwischen Träger und Strahlfokus und hierdurch die

Einwirkdauer der einzelnen Pulse der Laserstrahlung auf die zu trennenden Orte der Trennfläche gesteuert. Dabei können die Steuerungsmittel entweder (a) sowohl die zeitliche Abfolge der Strahlungspulse und die Relativbewegung steuern oder (b) die zeitliche Abfolge der Strahlungspulse lediglich erfassen und in deren Abhängigkeit die Relativbewegung steuern. Bei Steuerungsart (b) kann beispielsweise auf Pulsfrequenzen reagiert werden, welche in Abhängigkeit der Belastung und der Energieversorgung der Laser-Strahlungsquelle variieren.

Weiterhin können Steuerungsmittel vorgesehen sein, welche mit Mitteln zur Erfassung der Relativbewegung zwischen dem Strahlfokus und dem Träger verbunden sind und die zeitliche Abfolge der Strahlungspausen in Abhängigkeit von der Relativbewegung steuern. Diese Ausführungsform ist insbesondere dann vorteilhaft, wenn eine manuelle Steuerung der Relativbewegung durch den Benutzer des Mikrotoms erfolgt. Auch diese Steuerungsmittel dienen zur Synchronisation der Laserstrahlungspulse mit der Relativbewegung zwischen Strahlfokus und Träger. So kann in Abhängigkeit von der manuell gesteuerten Relativbewegung die Einwirkung bzw. Unterbrechung der gepulsten Laserstrahlung durch die Steuerungsmittel gesteuert werden. Auf diese Weise kann vermieden werden, dass bei schnellen Relativbewegungen keine oder eine nur unvollständige Durchtrennung in der Trennfläche erfolgt, denn die Pulsfrequenz oder die Einwirkdauer kann in diesem Fall erhöht werden. Weiterhin kann verhindert werden, dass eine zu hohe Strahlungsenergie in einen Ort eingebracht wird, wenn keine oder eine langsame Relativbewegung erfolgt; denn in diesem Fall können die Steuerungsmittel die Frequenz und/oder die Einwirkdauer verringern oder die Einwirkung des Strahlfokus auf den Ort der Trennfläche vollständig verhindern.

Bei einer weiteren vorteilhaften Ausführungsform sind Mittel zur Steuerung der Relativbewegung zwischen dem Träger und dem Strahlfokus entlang einer gekrümmten Trennfläche vorgesehen. Zur Steuerung der Relativbewegung entlang einer gekrümmten Trennfläche ist es regelmäßig erforderlich, die Relativbewegung in mindestens zwei,

in der Regel drei Raumrichtungen auszuführen. Die Relativbewegung kann dabei durch Mittel zur Führung oder Mittel zur Fokussierung der Laserstrahlung oder durch eine mit dem Träger oder der Laserstrahlungsquelle zusammenwirkende Bewegungseinrichtung oder
5 eine Kombination der vorgenannten Mittel erreicht werden. Mit der vorteilhaften Ausführungsform lässt sich von Untersuchungsobjekten mit gekrümmter Oberfläche eine oberflächenparallele, dünne Scheibe trennen. Weiterhin wird mit dieser Ausführungsform erreicht, dass aus einem Bearbeitungsobjekt eine dünne Scheibe herausgetrennt werden
10 kann, die in beliebiger Ausrichtung und Ausgestaltung in dem Bearbeitungsobjekt liegt.

Die Relativbewegung zwischen Strahlfokus und Träger kann automatisch oder manuell erfolgen. Die manuelle Steuerung kann beispielsweise über eine mit den Steuerungsmitteln zusammenwirkende
15 Bedienungseinheit, beispielsweise einen Joystick, erfolgen, die dem Benutzer eine manuelle Steuerung der Relativbewegung mittels der Fokussiermittel, der Leitmittel und/oder der Bewegungseinrichtung ermöglicht.

Das erfindungsgemäße Mikrotom umfasst vorteilhafterweise Mittel zur
20 Beobachtung des Bearbeitungsobjekts. Die Beobachtungsmittel können beispielsweise als Lupe, Mikroskop oder ähnliches ausgeführt sein. Sie dienen beispielsweise dazu, den Materialtrennungsvorgang vorzubereiten, indem mit Hilfe der Beobachtungsmittel eine Definition der Ausrichtung und Gestaltung der Trennfläche und folglich der Relativbewegung
25 zwischen Strahlfokus und Träger vorgenommen wird. Weiterhin können die Beobachtungsmittel dazu dienen, den Materialtrennvorgang selbst zu beobachten, um so beispielsweise eine Kontrolle der automatisch ausgeführten Relativbewegung oder um eine manuelle Steuerung der Relativbewegung durchzuführen.

30 Die Beobachtungsmittel können insbesondere ein optisches Mikroskop umfassen, das nach dem Auflicht- und/oder Durchlichtverfahren

betreibbar ist. Dabei eignet sich insbesondere ein optisches Mikroskop, dessen Strahlenachse etwa parallel zu der Strahlenachse des Laserstrahls im Bereich des Strahlfokus liegt, insbesondere mit dieser etwa zusammenfällt. Weiterhin ist insbesondere ein optisches Mikroskop
5 geeignet, welches sowohl als Durchlicht- wie auch als Auflichtmikroskop arbeiten kann, um dadurch, in Abhängigkeit von der Beschaffenheit des Bearbeitungsobjekts, also insbesondere dessen geometrischen Abmessungen und Absorptionseigenschaften für die zur Beobachtung eingesetzte Strahlung, ein jeweils geeignetes Mikroskopieverfahren
10 einsetzen zu können.

Weiterhin können die Beobachtungsmittel Mittel zur Darstellung von zumindest einem Abschnitt des Bearbeitungsobjekts anhand der zurück gestreuten Laserstrahlung beinhalten. Hierdurch wird in vereinfachter Weise eine Beobachtung des Bearbeitungsobjekts ohne zusätzliche
15 Beleuchtungseinrichtungen möglich.

Die vorgenannten Darstellungsmittel können insbesondere einen Detektor zur Erfassung der von dem Abschnitt des Bearbeitungsobjekts zurückgestreuten Strahlung, Mittel zur Erfassung der von einer Referenzebene reflektierten kohärenten Strahlung, und Mittel zur
20 Erzeugung einer bildlichen Darstellung des Abschnitts des Bearbeitungsobjekts mittels Überlagerung der von dem Abschnitt des Bearbeitungsobjekts zurück gestreuten Laserstrahlung und der von der Referenzebene reflektierten kohärenten Strahlung umfassen. Diese Ausführungsform ist insbesondere dann vorteilhaft, wenn die Intensität
25 der einzelnen Laserpulse so eingestellt werden kann, dass ein materialtrennender Effekt (eine „photodisruptive Wirkung“) nicht auftritt und insbesondere die Intensität der Laserpulse zum Zwecke der Darstellung des Bearbeitungsobjekts geringer eingestellt werden kann als zum Zwecke der Materialtrennung. Durch die besagten Merkmale
30 wird die Darstellung der Probe mit der Methode der optischen Kohärenztomographie (OCT) erreicht. Eine detaillierte Beschreibung des

OCT-Darstellungsverfahren kann der DE 100 20 559 A1 insbesondere deren Absätzen 0037, 0038 und 0041-0051 entnommen werden.

Bezugnehmend auf diese Offenlegungsschrift kann das OCT-Verfahren kurz zusammengefasst werden als ein Abbildungsverfahren, bei dem
5 eine kohärente Strahlung, wie beispielsweise eine Laserstrahlung, geteilt wird, ein erster Teil der Laserstrahlung auf ein abzubildendes Objekt, in diesem Fall das Bearbeitungsobjekt, gerichtet wird und ein zweiter Teil auf eine Referenzebene gerichtet wird. Die von dem abzubildenden Objekt und der Referenzebene reflektierten Strahlungs-
10 anteile werden erfasst und zur Deckung gebracht und durch dreidimensionales Abscannen des abzubildenden Objekt kann eine dreidimensionale Darstellung erzeugt werden, indem die Interferenz der überlagerten Pulse mittels eines Fotodetektors detektiert wird.

Mit Hilfe des OCT-Verfahrens können Strukturen mit einer Auflösung
15 von bis zu $1\mu\text{m}$ dargestellt werden. Das OCT-Verfahren hat eine von dem Absorptionsvermögen des untersuchten Materials abhängige Eindringtiefe. Selbst in stark streuende Geweben wird regelmäßig eine Eindringtiefe von $>2\text{mm}$ erreicht.

Ein weiterer Aspekt der Erfindung ist ein Verfahren zum Mikrotomieren
20 mit den Merkmalen gemäß Anspruch 16. Das Verfahren ist insbesondere geeignet, um mit dem erfindungsgemäßen Mikrotom ausgeführt zu werden.

Einige vorteilhafte Verfahrensformen sind in den Ansprüchen 17 – 24
angegeben und entsprechen einer Ausführung des Verfahrens mittels
25 vorteilhafter Ausführungsformen des erfindungsgemäßen Mikrotoms. Insoweit wird auf die vorstehende Beschreibung verwiesen.

In manchen Fällen ist es vorteilhaft, wenn in einer ersten Phase des Schneidvorgangs ein oder mehrere voneinander beabstandete Bereiche der Trennfläche getrennt werden und in einer letzten Phase des
30 Schneidvorgangs eine vollständige Trennung entlang der Trennfläche

erfolgt, indem die zwischen den beabstandeten Bereichen liegenden Bereiche getrennt werden. Die Aufteilung des Trennvorgangs in eine erste Phase und eine letzte Phase, wobei die letzte Phase beispielsweise eine der ersten Phase direkt folgende zweite Phase sein kann, ist zur Vermeidung von Deformationen während des Trennvorgangs und zur Vermeidung von Deformationen der abgetrennten dünnen Scheibe vorteilhaft.

In der ersten Phase wird dabei vorzugsweise an mehreren lokal umgrenzten Bereichen eine Materialtrennung erzeugt. Zwischen diesen Bereichen bleiben ungetrennte Bereiche, oder „Stege“, stehen. Diese Stege halten die nach der ersten Phase erst teilweise abgetrennte Scheibe noch am Bearbeitungsobjekt fest und vermeiden so ein Verformen der Scheibe. In folgenden Phasen des Trennvorgangs erfolgt dann eine gezielte Trennung der Stege, die wegen stabilisierten Formen des Bearbeitungsobjekts und der stabilisierten Lage der abzutrennenden Scheibe innerhalb des Bearbeitungsobjekts präzise vom Strahlfokus erfasst werden können.

Darüber hinaus wird durch diese Fortbildung des Verfahrens vermieden, dass hohe Energiemengen in einen eng umgrenzten Bereich eingebracht werden, wodurch Nachteile wie die Bildung großer Gas- oder Kavitationsblasenbildung sowie Veränderungen des Materials des Bearbeitungsobjekts in Folge thermischer Einflüsse vermieden werden. Insbesondere können die kleinen Gasbläschen im Bereich der in der ersten Phase durchtrennten Bereiche bereits an die Umgebung abgegeben sein, wenn die Trennung in der letzten Phase erfolgt.

Eine vorteilhafte Ausführungsform des erfindungsgemäßen Mikrotoms wird nachfolgend unter Bezugnahme auf die beigefügten Figuren beschrieben. Darin zeigen:

Fig. 1 eine schematische Darstellung des erfindungsgemäßen Mikrotoms, und

Fig. 2 eine schematische, querschnittene Darstellung eines Bearbeitungsobjekts auf einem Träger.

Das in Fig. 1 dargestellte Mikrotom weist eine Glasplatte 3 als Träger für ein Bearbeitungsobjekt („Probe“) 4 auf. Die Glasplatte 3 ist mit einer XYZ-Verfahreinheit 2 verbunden. Durch die Auflage der Probe 4 auf der Glasplatte 3 wird bei weichen, flexiblen Proben eine vorteilhafte Glättung erzielt. Diese Glättungswirkung kann gegebenenfalls durch eine zweite Glasplatte (nicht dargestellt) verstärkt werden, indem die Probe zwischen dieser zweiten Glasplatte und der Glasplatte 3 eingesetzt und gepresst wird.

Auf einer Seite der Glasplatte 3 ist ein Fokussierobjektiv 6 angeordnet, dass mehrere teleskopartig angeordnete Linsen (nicht dargestellt) aufweist. Der Abstand der Linsen zueinander und der Abstand der Linsen zu der Glasplatte 3 kann variiert werden. Auf diese Weise wird die Divergenz/Konvergenz eines Laserstrahls 11, der durch das Fokussierobjektiv 6 hindurch läuft, verändert. Die optische Achse 7 des Fokussierobjektivs 6 liegt senkrecht zu der Plattenebene der Glasplatte 3.

Ebenfalls in der optischen Achse 7 des Fokussierobjektivs 6 ist auf der dem Fokussierobjektiv 6 gegenüberliegenden Seite der Glasplatte 3 eine Zusatzlichtquelle 16 angeordnet. Die Zusatzlichtquelle 16 dient der Beleuchtung der Probe 4 zur Darstellung der Probe oder von Teilen der Probe mittels eines optischen Durchlichtmikroskopieverfahrens.

Die XYZ-Verfahreinheit 2 ist an einem Gehäuse 1 befestigt. Ebenfalls an diesem Gehäuse 1 befestigt ist die Zusatzlichtquelle 16. Innerhalb des Gehäuses 1 sind das Fokussierobjektiv 6 und ein Lasergenerator 10 mit Laser-Strahlungsquelle angeordnet, die den Laserstrahl 11 aussendet. Der Laserstrahl 11 läuft zunächst in etwa parallel zu der Ebene der Glassplatte 3, wird dazu mittels eines teildurchlässigen Spiegels 12 um

etwa 90° abgelenkt und verläuft hiernach coaxial zur optischen Achse des Fokussierobjektives 6.

Durch Verschwenken oder Verschieben des Spiegels 12 kann der Laserstrahl zur optischen Achse 7 abgewinkelt werden und somit der Strahlfokus des Laserstrahls in den parallel zur Ebene der Glasplatte 3 liegenden Richtungen verschoben werden. Am Spiegel 12 ist eine Bewegungseinrichtung 30 befestigt, welche den Spiegel verschieben und verschwenken kann. Vorzugsweise kann der Spiegel um zwei senkrecht zueinander stehende Achsen verschwenkt werden, deren Schnittpunkt dabei vorzugsweise auf der Mittelachse des Laserstrahls 11 liegt. Die Bewegungseinrichtung 30 ist mit einem Rechner 14 verbunden, der die Verschwenkung des Spiegels 12 und somit den Ablenkungswinkel des Laserstrahls durch den Spiegel 12 steuert. Eine Verschwenkung des Spiegels 12 aus der in Figur 1 dargestellten Lage bewirkt eine Änderung des Strahlverlaufs im Bereich zwischen dem Spiegel 12 und der Probe 4. Der Laserstrahl verläuft dadurch insbesondere nicht mehr coaxial zu der optischen Achse des Fokussierobjektives 6.

Zwischen dem teildurchlässigen Spiegel 12 und dem Lasergenerator 10 mit Laser-Strahlungsquelle ist eine Vorfokussiereinrichtung 13 in der Strahlachse des Laserstrahls 11 angeordnet, welche eine Veränderung der Divergenz bzw. der Konvergenz des Laserstrahls ermöglicht. Durch Veränderung der Divergenz bzw. Konvergenz kann die Lage des Strahlfokus in Strahlungsrichtung hinter dem Fokussierobjektiv 6, entlang der optischen Achse des Fokussierobjektives 6 verschoben werden. Die Vorfokussierungseinrichtung 13 besteht aus mehreren Linsen (nicht dargestellt), und zwar vorzugsweise aus zwei Linsen, die teleskopartig angeordnet sind und deren Abstand zueinander verändert werden kann, um hierdurch die Divergenz/Konvergenz des Laserstrahls zu verändern.

Zwischen dem teildurchlässigen Spiegel 12 und dem Fokussierobjektiv 6 ist ein teildurchlässiger Beleuchtungsspiegel 12a im Strahlengang des Laserstrahls 11 angeordnet. Durch den Beleuchtungsspiegel 12a wird Licht, dass aus einer neben dem Laserstrahl angeordneten Lichtquelle 5 zur Beleuchtung der Probe emittiert wird, auf die Probe projiziert, um eine mikroskopische Darstellung der Probe 4 mittels des Auflichtmikroskopieverfahrens zu ermöglichen.

Der Laserstrahl 11 wird durch den teildurchlässigen Beleuchtungsspiegel 12a nicht abgelenkt, sondern durchdringt diesen Beleuchtungsspiegel in Richtung auf das Fokussierobjektiv 6.

Hinter dem teildurchlässigen Spiegel 12 ist in der optischen Achse 7 eine Digitalkamera 8 angeordnet. Diese Digitalkamera 8 erfasst die von der Probe 4 reflektierte Strahlung bzw. die von der Zusatzlichtquelle 16 ausgesendete und durch die hindurchgetretene Probe Strahlung. Die Digitalkamera 8 ist mit dem Rechner 14 verbunden, der die von der Kamera 8 übermittelten Bilddaten verarbeitet und eine Darstellung der Probe 4 auf einem Monitor 15 ausgibt.

Anstelle der Kamera 8 kann dabei auch eine Okulareinrichtung (nicht dargestellt) vorgesehen sein, die eine direkte Betrachtung der Probe ermöglicht. Weiterhin kann eine Okulareinrichtung mit daran angesetzter digitaler Kamera 8 vorgesehen sein, die sowohl eine direkte Betrachtung als auch eine Betrachtung der Probe auf dem Monitor ermöglicht.

Zwischen der Vorfokussiereinrichtung 13 und dem Lasergenerator 10 mit Laser-Strahlungsquelle ist ein teildurchlässiger Ablenkspiegel 12b im Strahlengang des Laserstrahls 11 angeordnet. Der teildurchlässige Ablenkspiegel 12b zweigt einen Teil der von dem Untersuchungsobjekt 4 reflektierten Laserstrahlung in eine OCT-Detektoreinheit 9 ab. Die OCT-Detektoreinheit 9 ist mit dem Rechner 14 verbunden und übermittelt Bilddaten an diesen Rechner 14, der daraus eine Darstellung der Probe mittels der Methode der optischen Kohärenztomographie

berechnet und diese Darstellung auf dem Monitor 15 ausgibt. Alternativ kann diese Darstellung der Probe mittels der Methode der optischen Kohärenztomographie bereits in der OCT-Detektoreinheit 9 berechnet werden und dann direkt auf einem Bildschirm o.ä. dargestellt werden oder zum Zwecke einer Darstellung an den Rechner 14 übermittelt werden.

Der Rechner 14 dient darüber hinaus der Steuerung der Relativbewegung zwischen dem Strahlfokus und der Glasplatte 3, welche als Träger für die Probe 4 dient. Zu diesem Zweck ist der Rechner 14 mit der Vorfokussiereinrichtung 13, der Bewegungseinrichtung 30 und der XYZ-Verfahreinheit 2 verbunden.

Darüber hinaus steuert der Rechner 14 das An- und Ausschalten des Lasergenerators 10 mit Laser-Strahlungsquelle und das gepulste Einwirken des Strahlfokus des Laserstrahls auf den Ort der Trennfläche der Probe 4. Zu diesem Zweck ist der Rechner 14 mit der Lasergenerator 10 mit Laser-Strahlungsquelle verbunden.

Der Rechner 14 kann daher ebenfalls eine Abstimmung zwischen der gepulsten Laserstrahlung, dass heisst der Pulsfrequenz und Pulsdauer, und der Relativbewegung zwischen Strahlfokus und Probe bzw. Glasplatte 3, welche durch Verfahren der XYZ-Verfahreinheit, Veränderung der Konvergenz/Divergenz in der Vorfokussiereinrichtung 13 und/oder Verschwenken/Verschieben der Bewegungseinrichtung 30 erreicht wird.

Wie aus Figur 2 zu erkennen, liegt die Probe 4, durch Schwerkraft gehalten, auf der Glasplatte 3 bündig auf. In der Probe 4 sind mehrere Einschlüsse 21, welche Gasblasen, Festkörper von anderer Konsistenz oder ähnliches sein können.

Der Laserstrahl 11 durchdringt die Glasplatte 3 senkrecht zu deren Plattenebene als konvergierender Strahl 17. Durch die Konvergenz des

Strahls 17 wird ein Strahlfokus 22 erzeugt, der an einem Ort einer Trennfläche 19 eine Materialtrennung verursacht. Durch Verschieben der Glasplatte 3 in einer Richtung senkrecht zu der Längsachse des Laserstrahls 11 bzw. 17 wird der Strahlfokus 22 entlang der Trennfläche 19 bewegt.

Das erfindungsgemäße Mikrotom ermöglicht darüber hinaus durch Bewegen der Glasplatte 3 in allen drei Raumrichtungen die Führung des Strahlfokus 22 entlang einer gekrümmten Trennfläche, um zum Beispiel eine Aushöhlung zu erzeugen, wie z.B. in Fig. 2 beispielsweise als Trennfläche 20 dargestellt. Dabei kann die Komponente der Verfahrbewegung in Richtung der Längsachse des Laserstrahls 11 bzw. 17 auch durch eine Änderung der Konvergenz/Divergenz in der Vorfokussiereinrichtung 13 erreicht werden. Zum Führen des Strahlfokus 22 entlang der Trennfläche 20 wird in diesem Falle eine Verfahrbewegung der Glasplatte 3 in zwei Raumrichtungen (XY-Richtung) mit einer Veränderung der Strahlfokuslage in Relation zu der Glasplatte 3 in einer senkrecht zu der XY-Richtung liegenden Richtung durch Veränderung der Konvergenz/Divergenz mittels der Vorfokussiereinrichtung 13 kombiniert.

Das durch den konvergierenden Laserstrahl 17 in den Strahlfokus 22 einfallende Laserlicht (Pfeil A in Figur 1) wird von dem Material der Probe 4 im Bereich des Strahlfokus reflektiert und in Form eines divergierenden Reflektionslaserstrahls 18 (Pfeil B in Fig. 1) zurückgeworfen. Der Reflektionslaserstrahl 18 durchläuft das Fokussierobjektiv 6 und die Vorfokussiereinrichtung 13 in umgekehrter Richtung wie der von der Laser-Strahlungsquelle ausgesendete Laserstrahl auf seinem Weg zur Probe 4. Der Reflektionslaserstrahl 18 kann von der OCT-Detektoreinheit erfasst werden und zur Darstellung einer Abbildung der Probe mittels des Verfahrens der optischen Kohärenztomographie verwendet werden.

Bei einer vorteilhaften Ausführungsform des erfindungsgemäßen Mikrotomiervfahrens mit dem erfindungsgemäßen Mikrotom definiert ein Benutzer zunächst, beispielsweise anhand einer mittels der Kamera 8 oder der OCT-Detektoreinheit 9 gewonnenen Abbildung der Probe 4, eine Umrandung einer Fläche (beispielsweise ein Rechteck oder einen Kreis) und definiert anschließend durch Angabe der Schnitttiefe das auszuschneidende Volumen. Dieses Volumen wird dann herausgetrennt durch automatisches Abrastern mittels Relativbewegung des Strahlfokus entlang der vorgegebenen Fläche in der vordefinierten Tiefe und anschließend mehrmaliges Umfahren der Fläche entlang ihrer Ränder bei gleichzeitig kontinuierlicher oder gestufter Annäherung des Strahlfokus aus der Tiefe der Probe an die Oberfläche.

Patentansprüche

1. Mikrotom, umfassend:

- eine Aufnahmevorrichtung mit einem Träger (3) zum Aufnehmen von zumindest einem Abschnitt eines Bearbeitungsobjekts (4),
5 und
- eine Trenneinrichtung (6, 10, 13),

dadurch gekennzeichnet, dass die Trenneinrichtung

- wenigstens eine Laser-Strahlungsquelle (10) und
- Mittel zur Fokussierung (6; 13) der Laserstrahlung umfasst, und der durch die Fokussierung erzeugte Strahlfokus (22)
10
- relativ zu dem Träger (3) bewegbar ist, und
- auf einen Ort der Trennfläche (19; 20) des Bearbeitungsobjekts (4) leitbar ist, um an diesem Ort eine Materialtrennung zu bewirken.
15

2. Mikrotom nach Anspruch 1,

dadurch gekennzeichnet, dass die Mittel zur Fokussierung (6; 13) der Laserstrahlung dazu eingerichtet sind, den Strahlfokus in zumindest
20 einer Raumrichtung relativ zu dem Träger zu bewegen.

3. Mikrotom nach Anspruch 1 oder 2,

dadurch gekennzeichnet, dass Mittel zur Führung (12) der Laserstrahlung vorgesehen sind, um den Strahlfokus in zumindest einer
25 Raumrichtung relativ zu dem Träger zu bewegen.

4. Mikrotom nach einem der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet, dass die Mittel zur Fokussierung (6; 13) der Laserstrahlung eine numerische Apertur $\geq 0,65$, vorzugsweise eine
30 numerische Apertur $\geq 1,2$ aufweisen.

5. Mikrotom nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass Mittel zum gepulsten Einbringen (14) des Strahlfokus in den Ort der Trennfläche vorgesehen sind.

5 6. Mikrotom nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Mittel zum gepulsten Einbringen dazu eingerichtet sind, um Pulse mit einer Einwirkdauer $< 1 \cdot 10^{-12}$ Sekunde zu erzeugen.

10 7. Mikrotom nach Anspruch 5 oder 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Mittel zum gepulsten Einbringen eingerichtet sind, um den Strahl pulsierend zu unterbrechen und/oder von dem Ort der Trennfläche wegzulenken.

15 8. Mikrotom nach Anspruch 5 oder 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Mittel zum gepulsten Einbringen mit der Strahlungsquelle zusammenwirken, um den Strahl pulsierend zu unterbrechen.

20 9. Mikrotom nach einem der Ansprüche 5-8, dadurch gekennzeichnet, dass Steuerungsmittel (14) vorgesehen sind, welche

- 25
- die zeitliche Abfolge der Strahlungspausen steuern und/oder mit Mitteln zur Erfassung der zeitlichen Abfolge der Strahlungspausen verbunden sind und/oder
 - die Relativbewegung zwischen dem Strahlfokus und dem Träger in Abhängigkeit von der zeitlichen Abfolge der Strahlungspausen steuern.

30 10. Mikrotom nach einem der Ansprüche 5-8, dadurch gekennzeichnet, dass Steuerungsmittel vorgesehen sind, welche

- mit Mitteln zur Erfassung der Relativbewegung zwischen dem Strahlfokus und dem Träger verbunden sind, und

- die zeitliche Abfolge der Strahlungspausen in Abhängigkeit von der Relativbewegung steuern.

11. Mikrotom nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
 5 dadurch gekennzeichnet, dass Mittel vorgesehen sind zur Steuerung der Relativbewegung zwischen dem Träger (3) und dem Strahlfokus (22) entlang einer gekrümmten Trennfläche (20).

12. Mikrotom nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
 10 dadurch gekennzeichnet, dass Mittel zur Beobachtung (9; 8, 14, 15, 5, 16) des Bearbeitungsobjekts vorgesehen sind.

13. Mikrotom nach Anspruch 12,
 15 dadurch gekennzeichnet, dass die Beobachtungsmittel ein optisches Mikroskop umfassen, das nach dem Auflicht- und/oder Durchlichtverfahren betreibbar ist.

14. Mikrotom nach Anspruch 12 oder 13,
 20 dadurch gekennzeichnet, dass die Beobachtungsmittel Mittel zur Darstellung von zumindest einem Abschnitt des Bearbeitungsobjekts anhand der zurück gestreuten Laserstrahlung beinhalten.

15. Mikrotom nach Anspruch 14,
 25 dadurch gekennzeichnet, dass die Darstellungsmittel umfassen:

- einen Detektor (9) zur Erfassung der von dem Abschnitt der Bearbeitungsobjekt zurückgestreuten Strahlung,
- Mittel zur Erfassung (9) der von einer Referenzebene reflektierten kohärenten Strahlung, und
- Mittel zur Erzeugung (9; 14) einer bildlichen Darstellung des

30 Abschnitts der Bearbeitungsobjekt mittels Überlagerung der von dem Abschnitt der Bearbeitungsobjekt zurück gestreuten Laserstrahlung und der von der Referenzebene reflektierten kohärenten Strahlung.

16. Verfahren zum Mikrotomieren von Bearbeitungsobjekten (4), mit den Schritten

- Aufnehmen von zumindest einem Abschnitt des Bearbeitungsobjekts durch einen Träger (3) einer Aufnahmevorrichtung,
- zumindest teilweises Trennen des Bearbeitungsobjekts mittels einer Schneideinrichtung,

dadurch gekennzeichnet, dass

- eine Laserstrahlung (11) von einer der Schneideinrichtung zugeordneten Strahlungsquelle (10) abgegeben wird und
- diese Laserstrahlung fokussiert wird und der Strahlfokus (22) auf einen Ort einer Trennfläche (19; 22) eines Bearbeitungsobjekts geleitet wird, um an diesem Ort eine Materialtrennung zu erzeugen, wobei der Strahlfokus (22) relativ zu dem Träger (3) in einer, zwei oder drei Raumrichtungen bewegt wird.

17. Verfahren nach Anspruch 16,

dadurch gekennzeichnet, dass der Strahlfokus pulsierend auf den Ort der Trennfläche einwirkt.

18. Verfahren nach Anspruch 17,

dadurch gekennzeichnet, dass die Einwirkdauer eines Pulses $< 1 \cdot 10^{-12}$ Sekunde ist.

19. Verfahren nach einem der Ansprüche 16-18,

dadurch gekennzeichnet, dass der Strahlfokus entlang einer gekrümmten Fläche (20) geführt wird.

20. Verfahren nach Anspruch 17,
dadurch gekennzeichnet, dass die Abfolge der Pulse und die
Relativbewegung zwischen Träger und Strahlfokus zeitlich zueinander
gesteuert werden.

5

21. Verfahren nach einem der Ansprüche 16-20,
dadurch gekennzeichnet, dass die Trennfläche vor dem Schneidvorgang
vorherbestimmt wird und der Strahlfokus entlang dieser Trennfläche
automatisch entlang geführt wird.

10

22. Verfahren nach Anspruch 21,
dadurch gekennzeichnet, dass vor dem Schneidvorgang eine Abbildung
zumindest eines Abschnitts des Bearbeitungsobjekts mittels eines
lichtmikroskopischen Abbildungsverfahrens erstellt wird und die
Vorherbestimmung der Trennfläche anhand dieser Abbildung
vorgenommen wird.

15

23. Verfahren nach Anspruch 21,
dadurch gekennzeichnet, dass vor dem Schneidvorgang eine Abbildung
zumindest eines Abschnitts des Bearbeitungsobjekts mittels des
Verfahrens der optischen Kohärenztomographie erstellt wird und die
Vorherbestimmung der Trennfläche anhand dieser Abbildung
vorgenommen wird.

20

25

24. Verfahren nach einem der Ansprüche 16-21,
dadurch gekennzeichnet, dass während des Schneidvorgangs eine
Abbildung zumindest eines Abschnitts des Bearbeitungsobjekts mittels
eines lichtmikroskopischen Abbildungsverfahrens und/oder des
Verfahrens der optischen Kohärenztomographie erstellt wird und dem
Benutzer eine Wiedergabe dieser Abbildung bereit gestellt wird, anhand
welcher er den Strahlfokus führen kann.

30

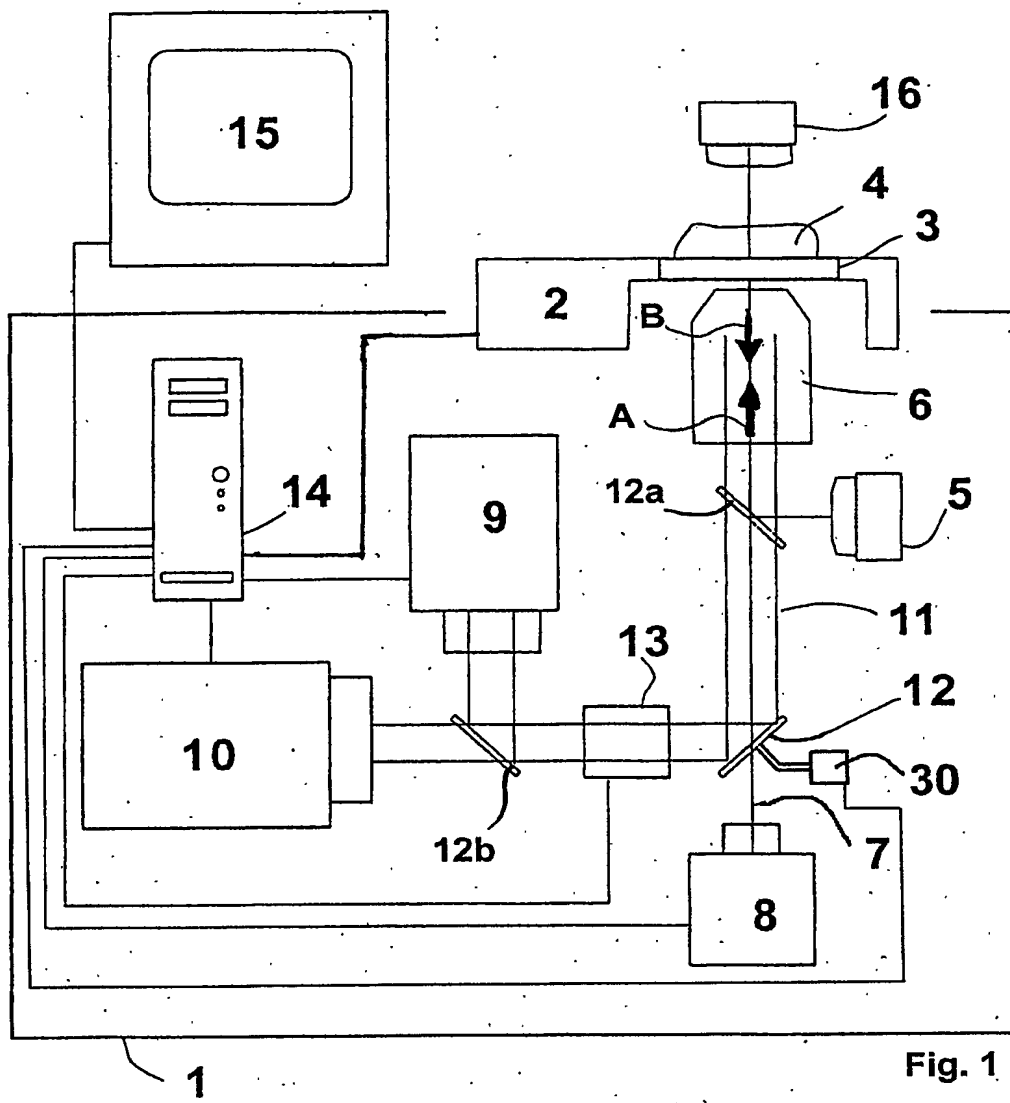
25. Verfahren nach einem der Ansprüche 16-24

- dadurch gekennzeichnet, dass in einer ersten Phase des Schneidvorgangs ein oder mehrere voneinander beabstandete Bereiche der Trennfläche getrennt werden und in einer letzten Phase des Schneidvorgangs eine vollständige Trennung entlang der Trennfläche erfolgt, indem die zwischen den beabstandeten Bereichen liegenden Bereiche getrennt werden.
- 5

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein Mikrotom, umfassend eine Aufnahmevorrichtung mit einem Träger (3) zum Aufnehmen von
5 zumindest einem Abschnitt eines Bearbeitungsobjekts (4), und eine Trenneinrichtung (6, 10, 13). Bekannte Mikrotome der vorgenannten Art weisen den Nachteil auf, dass eine Fixation des Bearbeitungsobjekts erforderlich ist und eine beschränkte Freiheit bei der Wahl der Schnittführung besteht. Die Erfindung vermeidet diese Nachteile, indem
10 die Trenneinrichtung wenigstens eine Laser-Strahlungsquelle (10) und Mittel zur Fokussierung (6; 13) der Laserstrahlung umfasst, und der durch die Fokussierung erzeugte Strahlfokus (22) relativ zu dem Träger (3) bewegbar ist und auf einen Ort der Trennfläche (19; 20) des Bearbeitungsobjekts (4) leitbar ist, um an diesem Ort eine
15 Materialtrennung zu bewirken. Die Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren zum Mikrotomieren, welches vorteilhaft mit dem erfindungsgemäßen Mikrotom ausgeführt werden kann.

(Figur 1)



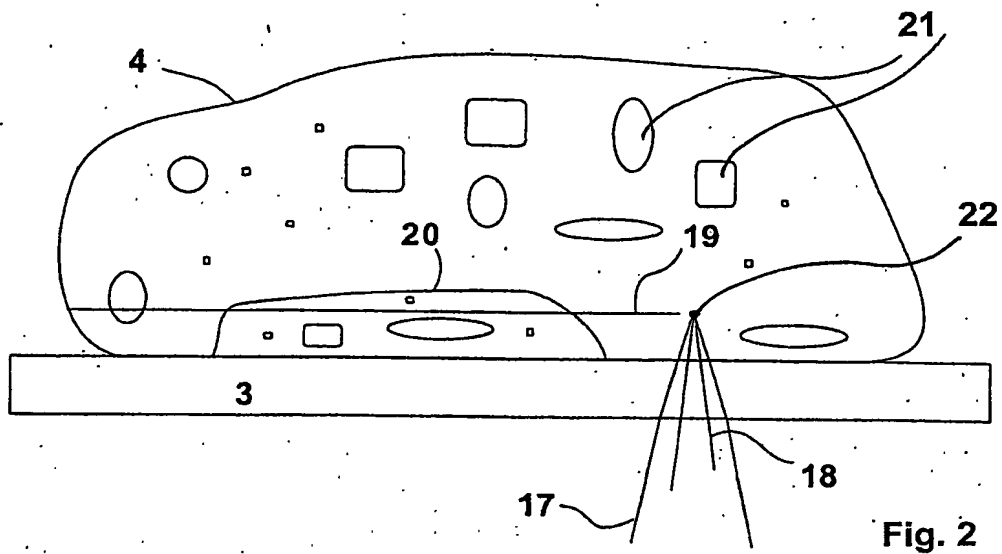


Fig. 2